

The present results lend support to the hypothesis that erythropoietin has some action upon erythrocytic precursors in the bone marrow that are advanced well beyond the stem cell stage as deduced by the rapid appearance of reticulocyte changes in the circulating blood. The large pool of rat bone marrow reticulocytes can be released into the circulating under certain conditions¹⁸, and erythropoietin may play a role in such phenomena. Thus, erythropoietin will cause a release of isotopically labelled reticulocytes from the isolated perfused leg of a rat as early as 10 min after administration¹⁹. Finally, it is pertinent that in a series of parallel experiments performed at the same time and using Fe59 as a tracer, a significant increase in iron incorporation into circulating erythrocytes was demonstrated 12, 18, and 24 h following a single injection of erythropoietin²⁰. Presumably, these increases are related to the reticulocyte changes that have been noted.

Zusammenfassung. Nach einer Injektion von Erythropoietin in hungernde Ratten beobachteten wir eine Erhöhung der Reticulocyten. Junge Formen von Reticulocyten erschienen bereits 12 h nach der Behandlung. Dieser Befund deutet vielleicht darauf hin, dass Erythropoietin nicht nur die Stammzellen angreift.

G. J. FRUHMANN and S. FISCHER

Departments of Anatomy and Medicine, Albert Einstein College of Medicine, Yeshiva University, New York (U.S.A.), June 5, 1962.

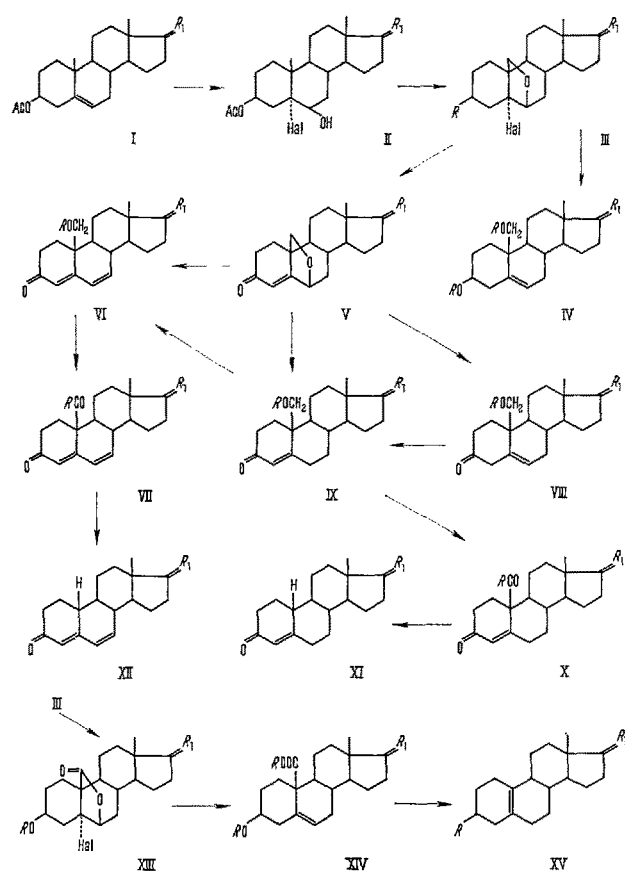
¹⁸ R. H. REIFF, J. Y. NUTTER, D. M. DONOHUE, and C. A. FINCH, *Amer. J. clin. Path.* **30**, 199 (1958).

¹⁹ A. S. GORDON, B. S. DORNFEST, J. LOBUE, and G. W. COOPER, in *Erythropoietin and Regulation of Erythropoiesis* (Grune & Stratton, Inc., New York), in press.

²⁰ S. FISCHER and I. M. LONDON, *Fed. Proc.* **20**, 358 (1961).

Ein neues Verfahren zur Herstellung von 19-Norsteroiden¹

Für die Gewinnung von 19-Norsteroiden wird bis heute fast ausschliesslich die Reduktion von Verbindungen mit aromatischem Ring A (insbesondere von Oestronderivaten)^{2a,b} nach BIRCH mit einem Alkalimetall in flüssigem Ammoniak verwendet. In letzter Zeit sind nun eine Reihe von Reaktionen bekannt geworden, die eine Oxygenierung der angulären Methylgruppe C-19 bewirken und damit eine direkte Eliminierung dieser Gruppe ohne Aromatisierung des Rings A möglich erscheinen lassen³.



Wir berichten im folgenden über eine in den letzten zwei Jahren⁴ in unsern Laboratorien bearbeitete, allgemein anwendbare und einfache Methode zur Gewinnung von 19-Norsteroiden. Durch Anlagerung unterchloriger⁵ oder unterbromiger⁶ Säure an Δ^5 -3 β -Acetoxy-steroid I erhält man die Halogenhydrine II. Wie die in 5-Stellung unsubstituierten, sekundären 6 β -Hydroxy-steroiden^{7,8} lassen sich auch die Halogenhydrine II⁹ in die 6 β ,19-Äther III umwandeln. Wir benützten dazu sowohl die Hypojoditreaktion^{8,10} als auch die Reaktion mit Bleitetraacetat⁷ (in Cyclohexan)¹¹, wobei im ersten Falle (insbesondere bei Verwendung von Bleitetraacetat und Jod in siedendem Cyclohexan) Ausbeuten bis zu 85% erhalten werden. Die 5 α -Halogen-6 β ,19-Äther sind ausserordentlich stabil: mit Methylmagnesiumjodid kann z. B. eine 17-Oxogruppe in eine 17 α -Methyl-17 β -hydroxy-Gruppierung umgewandelt und eine 20-Oxogruppe kann in bekannter Weise ins $\Delta^{17(20)}$ -Enolacetat übergeführt werden, was die

¹ Über Steroide, 189. (vorläufige) Mitteilung; 188. Mitt. vgl. J. KALVODA, J. SCHMIDLIN, G. ANNER und A. WETTSTEIN, *Exper.* **18**, 398 (1962).

² Vgl. (a) A. J. BIRCH, *Quart. Rev.* **4**, 69 (1950); (b) *J. chem. Soc. (London)* **1950**, 367.

³ Vgl. dazu auch (a) R. GARDI und C. PEDRALI, *Gazz. chim. ital.* **91**, 1420 (1961). – (b) M. AKHTAR und D. H. R. BARTON, *J. Amer. chem. Soc.* **84**, 1496 (1962).

⁴ Vgl. z. B. belgische Patente Nr. 606 179–606 182.

⁵ S. MORI, *J. chem. Soc. Japan* **71**, 600 (1950).

⁶ V. GRENVILLE, D. K. PATEL, V. PETROW, I. A. STUART-WEBB und D. M. WILLIAMSON, *J. chem. Soc. (London)* **1957**, 4105.

⁷ A. BOWERS, L. C. IBÁÑEZ, E. CABEZAS und H. J. RINGOLD, *Chem. and Ind.* **1960**, 1299. – A. BOWERS, E. DENOT, L. C. IBÁÑEZ, E. CABEZAS und H. J. RINGOLD, *J. org. Chem.* **27**, 1862 (1962).

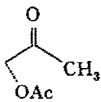
⁸ CH. MEYSTRE, K. HEUSLER, J. KALVODA, P. WIELAND, G. ANNER und A. WETTSTEIN, *Exper.* **17**, 475 (1961).

⁹ Kürzlich sind auch Nitritester solcher Halogenhydrine vom Typ II als Ausgangsstoffe für eine Synthese von 19-Norsteroiden verwendet worden. Vgl. Note 3 (b) und R. KWOK, T. JEN und M. E. WOLFF, *Abstr. of Papers*, 141st ACS Meeting, Washington (1962), p. 43 N.

¹⁰ CH. MEYSTRE, K. HEUSLER, J. KALVODA, P. WIELAND, G. ANNER und A. WETTSTEIN, *Helv. chim. Acta* **45**, 1317 (1962).

¹¹ Zur Methode vgl. G. CAINELLI, M. L. J. MIHAILOVIĆ, D. ARIGONI und O. JEGGER, *Helv. chim. Acta* **42**, 1124 (1959). – K. HEUSLER, J. KALVODA, CH. MEYSTRE, P. WIELAND, G. ANNER, A. WETTSTEIN, G. CAINELLI, D. ARIGONI und O. JEGGER, *Exper.* **16**, 21 (1960); *Helv. chim. Acta* **44**, 502 (1961).

R_1	Formel	Substituenten		Smp. °C ²⁰	krist. aus ²¹	$[\alpha]_D$ (CHCl ₃)
	II	5 α -Cl		192–194	Ae-Pä	– 26°
	III	5 α -Cl	3 β -OAc	139–140	Ae-MeOH	+ 8°
		5 α -Cl	3 β -OH	137–138	MeOH	+ 7°
	IV		3 β -OH	153–155	MeCl-MeOH	– 27°
=O			19-OH			
	II	5 α -Cl		225–227	MeCl-Ae-Pä	+ 14°
	III	5 α -Cl	3 β -OAc	180–182	Ae-MeOH	+ 51°
		5 α -Cl	3 β -OH	227–229	MeCl-MeOH	+ 55°
		5 α -Br	3 β -OAc	174–178/184–187*	MeCl-Ae	+ 45°
		5 α -Br	3 β -OH	188/214–218*	MeCl-Ae	+ 47°
	IV		3 β -OAc	103–105*	MeOH-H ₂ O	– 40°
	V		19-OAc	184–186	MeCl-MeOH	– 35°
	VI		19-OH	198–199	MeCl-Ae-Pä	+ 135°
	VII		19-Aldehyd	150–152	Benzol	+ 143°
	VIII		19-OH	168–170	Ae-Pä	—
	IX ²²		19-OH	170–171/181	Ac-Hexan	—
	X ¹³		19-Säure	146 Zers.	Ac	—
	XII			181–182	MeCl-Ae-Pä	+ 58°
	XIII	5 α -Cl	3 β -OAc	198–199	Alk	—
	XIV		3 β -OAc	252–253	Alk	—
			3 β -OAc	188–189	Ac	– 62°
	II	5 α -Cl		197–199	MeCl-Ae-Pä	– 45°
	III	5 α -Cl	3 β -OAc	160–161	Ae	– 5°
		5 α -Br	3 β -OAc	178–180*	Ae-Hexan	– 5°
	V			149–152	Ac	– 96°
	XIII	5 α -Cl	3 β -OAc	185–186	MeOH	– 30°
	XIV ^{3a}		3 β -OAc	201–202	MeCl-Ae	– 114°
	III	5 α -Cl	3 β -OH	220–224	MeCl-Ae-Pä	– 6°
		5 α -Br	3 β -OH	235–236*	MeCl-MeOH-Ac	– 9°
	IV		3 β -OH	231–233	Eg-Ae	—
	V			78–80/127–130	Ac	– 99°
	IX ²³		19-OH	197	Ac	—
	XV		3 β -OH	143–144	Ac	+ 107°
	III	5 α -Cl	3 β -OH	212–214	Isopropanol	
	V			157–158	Benzol	
	II	5 α -Cl		199–200	Ac-Hexan	– 12°
		5 α -Cl		225–227*	Ae	– 43°
	III	5 α -Cl	3 β -OAc	148–150	Ae-Hexan	+ 25°
		5 α -Cl	3 β -OAc	228–230*	Ac	– 6°
	XIII	5 α -Cl	3 β -OAc	189–190	MeCl-Ae	– 3°
	III	5 α -Cl	3 β -OH	264–266*	MeOH-Ae	– 26°
	II	5 α -Cl		196–197	Ac	+ 25,5°
	III •	5 α -Cl	3 β -OAc	150–151	Ae	+ 65°
		5 α -Cl	3=O	130–131* (Zers.)	MeCl-Ae	+ 167°
	V			142–143		– 19°
			11=O	190–191*	MeCl-Ae	+ 134°
	IX ²³		19-OH	167	MeCl-Hexan	+ 184°
			11=O	203–205*	Ac-Ae	+ 233°
	X		19-Aldehyd	140–142	Ac-Pä	+ 249°
			19-Aldehyd	205–207*	MeCl-Ae	+ 527°
			19-Säure	136–136,5	Ac-Pä	+ 237°
			19-Säure-Methylester	141–142	MeCl-Ae-Pä	+ 234°
	III	5 α -Cl	3 β -OAc	171–172	Ac-Pä	+ 18°
	III	5 α -Cl	3 β -OH	251–253	MeCl-MeOH	+ 22° (CHCl ₃ + MeOH)
		5 α -Cl	3 β -OAc	175–176	MeOH-MeCl	– 2°

R_1	Formel	Substituenten	Smp. °C ²⁰	krist. aus ²¹	$[\alpha]_D$ CHCl ₃
	II	5 α -Cl 3 β -OAc	200–201	Ac	– 35°
	III	5 α -Cl 3 β -OAc	187–187,5	Ae-Pä	– 6°
		5 α -Cl 3 β -OH	243–245	MeCl-MeOH	—
		5 α -Cl 3=O	156–158/185–190	MeCl-Pä	—
	V		190–192	Ae-Pä	– 109°
	VI		173–175	MeCl-Ae-Pä	+ 35°
		19-OAc	209–210	Ac	+ 3°
		19-OH	237–239	Ac	– 56°
	XII		235–237	MeCl-Ae	—
	XIII	5 α -Cl 3 β -OAc	251–252	MeCl-Ae	—
		5 α -Cl 3 β -OH			

nachträgliche Einführung einer 17 α -Hydroxygruppe gestattet¹². Diese kann sogar ohne Spaltung des 6 β ,19-Äthers acetyliert werden.

Die 6 β ,19-Äther III lassen sich aber leicht reduktiv (mit Zink und Eisessig oder mit Lithium in flüssigem Ammoniak) zu Δ^6 ,19-Hydroxy-steroiden IV öffnen, welche als Ausgangsstoffe für die Herstellung von 19-Norsteroiden dienen können. Am einfachsten gelingt die reduktive Öffnung bei den durch alkalische Verseifung der 3 β -Acetoxygruppe in den Halogenäthern III, Oxydation zu 5 α -Halogen-3-ketonen mit Chromtrioxid und anschließende Halogenwasserstoffabspaltung (mit Pyridin oder Natriumacetat in Methanol) in einer Ausbeute von ca. 85% erhältlichen Δ^4 -3-Oxo-6 β ,19-oxiden V. Mit Zink und Eisessig unter milden Bedingungen gelangt man zu Δ^6 -3-Oxo-19-hydroxy-steroiden VIII, welche leicht in die Δ^4 -3-Oxo-19-hydroxyverbindungen IX umgelagert werden können. Letztere entstehen bei der energischen Reduktion mit Zink und Eisessig direkt aus den Oxido-ketonen V (Ausbeute bis 90%). Durch Oxydation der 19-Hydroxyverbindungen IX zu den 19-Aldehyden X ($R = H$) oder 19-Säuren X ($R = OH$)¹³ und Abspaltung des angulären Substituenten mit Basen bzw. Säuren¹³ erhält man in hoher Ausbeute die 19-Nor- Δ^4 -3-Ketone XI.

Die Behandlung der Δ^4 -3-Oxo-6 β ,19-oxido-steroiden V mit *p*-Toluolsulfosäure und Essigsäureanhydrid führt zu den Δ^4 ,6-3-Oxo-19-acetoxy-dienen VI¹⁴. Diese lassen sich wie die Monoene IX über die 19-Säuren VII ($R = OH$) in Δ^4 ,6-3-Oxo-19-nordiene XII überführen¹⁵.

Eine weitere Möglichkeit, um zu 19-Norsteroiden zu gelangen, besteht darin, dass man die 5 α -Halogen-6 β ,19-Oxide III mit Chromtrioxid in Eisessig bei 80° zu den Halogenlaktonen XIII oxydiert⁷, diese mit Zink und Eisessig reduziert und die gebildeten Δ^6 -19-Säuren XIV thermisch (z.B. durch Schmelzen im Hochvakuum) zu Δ^6 (10)-3-Acetoxy-19-norsteroiden XV decarboxyliert.

Die oben beschriebenen Verfahren wurden mit einer Reihe von Verbindungen der Cholestan-, Androstan- und Pregnanreihe durchgeführt. Die wichtigsten Zwischenprodukte und neuen Verbindungen sind in der folgenden Tabelle zusammengestellt. Von allen erwähnten Stoffen wurden Elementaranalysen und IR- und UV-Spektren erhalten, die mit den angegebenen Strukturen im Einklang stehen. Als Endprodukte wurden u.a. die folgenden 19-Norsteroiden erhalten: Δ^4 -3,17-Dioxo-19-norandrost¹⁶, 19-Nortestosteron²², Δ^6 (10)-3,17-Dioxo-19-norandrost¹³, Δ^4 ,6-3,17-Dioxo-19-norandrostadien, 19-Norprogesteron¹⁷, 11-Oxo-19-norprogesteron¹⁸, 17 α -Acetoxy-6-dehydro-19-norprogesteron und 19-Norcholestenon¹⁹.

Eine ausführliche Beschreibung der erwähnten Reaktionen wird in Helvetica chimica Acta erfolgen.

Summary. The new methods for the production of 19-norsteroids described involve the conversion of 5 α -halogen-6 β -hydroxy-steroids into the corresponding 5 α -halogen-6 β :19-ethers either with lead tetraacetate or by the hypiodite reaction^{8,10}. The 6 β :19-oxygen bridge is then opened reductively either directly or after oxidation of the 6 β :19-ethers to lactones or preferably after introduction of a Δ^4 -3-oxo grouping. Acylolytic cleavage of the Δ^4 -3-oxo-6 β :19-ethers followed by alkaline hydrolysis gives Δ^4 ,6-3-oxo-19-hydroxy-steroids. The 19-hydroxy-compounds formed are easily converted into 19-norsteroids by known methods.

K. HEUSLER, J. KALVODA, CH. MEYSTRE,
H. UEBERWASSER, P. WIELAND,
G. ANNER und A. WETTSTEIN

Forschungslaboratorien der CIBA Aktiengesellschaft, Pharmazeutische Abteilung, Basel (Schweiz), 25. Juli 1962.

¹² T. H. KRITCHEVSKY und T. F. GALLAGHER, J. Amer. chem. Soc. 73, 184 (1951).

¹³ H. HAGIWARA, S. NOGUCHI und M. NISHIKAWA, Chem. pharm. Bull. Japan 8, 84 (1960).

¹⁴ Diese Diene wurden auch durch Chloranil-Dehydrierung der Monoene IX hergestellt.

¹⁵ Unter geeigneten Bedingungen lassen sich auch die dabei als Zwischenprodukte auftretenden Δ^6 (10),6-Diene isolieren. So entstand aus der 17 α -Acetoxy-6-dehydroprogesteron-19-säure (erhalten aus der entsprechenden Hydroxyverbindung durch Oxydation) beim Erwärmen mit Pyridin das Δ^6 (10),6-3,20-Dioxo-17 α -acetoxy-pregnadien vom Smp. 163–165°. $[\alpha]_D = +161,5^\circ$, $\epsilon_{268m\mu} = 4500$.

¹⁶ A. L. WILDS und N. A. NELSON, J. Amer. chem. Soc. 75, 5366 (1953).

¹⁷ C. DJERASSI, L. MIRAMONTES und G. ROSENKRANZ, J. Amer. chem. Soc. 75, 4440 (1953).

¹⁸ A. BOWERS, J. S. MILLS, C. CASAS-CAMPILLO und C. DJERASSI, J. org. Chem. 27, 361 (1962).

¹⁹ L. VELLUZ, B. GOFFINET, J. WARNANT und G. AMIARD, Bull. Soc. chim. France 1957, 1289.

²⁰ Die mit * bezeichneten Smp. sind unter dem Mikroskop bestimmt und korrigiert. Die übrigen Smp. sind unkorrigiert.

²¹ Die verwendeten Abkürzungen bedeuten: Ae = Äther; Ac = Aceton; Alk = Alkohol; Eg = Essigester; MeCl = Methylenchlorid; MeOH = Methanol; Pä = Petroläther.

²² M. EHRENSTEIN und M. DÜNNENBERGER, J. org. Chem. 21, 774 (1956). – A. S. MEYER, Exper. 11, 99 (1955).

²³ M. EHRENSTEIN und K. OTTO, J. org. Chem. 24, 2006 (1959).